

**Untersuchungen zur Mitwirkung
des Heparins beim Wirkungsablauf
hyaluronidasehemmender
Substanzen**

Anton Christoforis

1960



Digitized by the Internet Archive
in 2026

AUS DER
MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. W. Seitz

**Untersuchungen zur Mitwirkung
des Heparins beim Wirkungsablauf
hyaluronidasehemmender
Substanzen**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Anton Christoforis
aus Epanomi/Griechenland

München 1960

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Referent: Professor Dr. W. SEITZ
Dekan: Professor Dr. Dr. H. EYER

Tag der mündlichen Prüfung: 21.12.1960



INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
PROBLEMATIK	5
EIGENE VERSUCHE	6
Methodik	6
Versuchsreihen	7
Berechnung der prozentualen Hemmung	9
Statistische Auswertung	9
TABELLEN	13
DISKUSSION	30
ZUSAMMENFASSUNG	31
LITERATURVERZEICHNIS	32

P R O B L E M A T I K

MATHIES und Mitarbeiter (1 - 8) haben versucht, die Wirkungsweise der hyaluronidasehemmenden Substanzen näher aufzuklären. Am Beispiel der Salicylate, des Chloräthylbenzmethoxazon, des Phenylbutazon, der Glucocorticoide und der Moorbäder wurde deren hyaluronidasehemmende Wirkung an weißen Ratten mit Hilfe einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddelmethode bestätigt bzw. erstmalig nachgewiesen. In weiteren Versuchen zeigte sich, daß die hyaluronidasehemmende Wirkung dieser untersuchten Stoffe und antirheumatischen Behandlungsmethoden bei adrenalectomierten Ratten ausbleibt, bei hypophysektomierten Tieren dagegen erhalten ist. Im Zusammenhang mit Versuchen von DOMENJOZ (9), MATHIES (8) und JUNG (10) hat sich gezeigt, daß die Ascorbinsäuredepletion der genannten Substanzen bei hypophysektomierten Tieren ausbleibt. Dieses Versuchsergebnis besagt, daß eine Aktivierung der Nebennierenrinde durch die geprüften Stoffe zwar stattfindet, die bei hypophysektomierten Ratten dagegen nicht mehr vorhanden ist, also über die Hypophyse läuft. Da jedoch bei hypophysektomierten Tieren, bei denen eine Aktivierung der Nebennierenrinde nicht sichtbar ist, gleichzeitig die hyaluronidasehemmende Wirkung erhalten bleibt, wird gefolgert, daß zwar die Nebenniere für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung maßgebend ist, daß aber speziell die Stimulierung der Nebennierenrinde hier nicht entscheidende Bedeutung besitzt. Es blieb demnach anzunehmen, daß eine Nebennierenmarkfunktion die Hyaluronidasehemmung bedingt. Diese Annahme wurde durch Versuche von MATHIES (11) und SCHEUFELE (12) bestätigt, nach denen auch bei adrenalectomierten Ratten die Nebennierenmarkkatecholamine Adrenalin und Noradrenalin eine Hyaluronidasehemmung gleicher Größenordnung hervorrufen, die nach Untersuchungen von MATHIES (13) und SCHMIDT (14) durch Ergotaminatartrat als Adrenolyticum blockiert werden können. Gleichzeitig ließ sich zeigen, daß nach Ergotaminatartrat die hyaluronidasehemmende Wirkung der geprüften Antirheumatica ausbleibt (13, 14). Die Hyaluronidasehemmung nach Adrenalin und Noradrenalin tritt nicht während der primären, an der Pupillenweite registrierbaren Katecholaminwirkung ein, sondern wird erst nach deren Abklingen sichtbar (11, 12). Dieses Phänomen ließ sich besonders an Versuchen mit Adrenalindauerinfusionen über mehrere Stunden zeigen, deren Ergebnisse eindeutig die Hyaluronidasehemmung erst nach Absetzen der Adrenalindauerinfusion erkennen ließen (15). Es war demnach anzunehmen, daß durch eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark ein Funktionsablauf in Gang gesetzt wird, der vermutlich zur Freisetzung weiterer Substanzen führt, die letztlich die Hyaluronidasehemmung bedingen. Es wurde deshalb nach weiteren Stoffen gesucht, die im Organismus vorkommen und auch eine hyaluronidasehemmende Wirkung besitzen. Vom

Heparin war ein hyaluronidasehemmender Effekt bekannt, der von MAXEIN (16) und ZIWARI (17) auch im Rattenversuch in vivo objektiviert werden konnte. Versuche der vorgelegten Arbeit sollten eine Bestätigung dafür liefern, daß normalerweise eine Heparinfreisetzung im Anschluß an die Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark erfolgt, und diese eine mitwirkende Funktion beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung durch entsprechend wirksame Substanzen besitzt. Es sollte demnach versucht werden, ob Protaminsulfat als heparin-inaktivierende Substanz die Hyaluronidasehemmung durch Heparin aufhebt. Versuche sollten geklärt werden, ob Ergotamintartrat die Hyaluronidasehemmung des Heparins zu blockieren in der Lage ist. Durch diese Versuche sollte deutlich gemacht werden, ob die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin sekundär über eine Heparinfreisetzung läuft. Als weiterer im Organismus vorkommender Körper, der nach Untersuchungen anderer Autoren eine Hyaluronidasehemmung hervorruft, ist das Histamin bekannt. KONTIS (18) hat in entsprechenden Versuchen die Hyaluronidasehemmung durch Histamin auch im in vivo Versuch zeigen können, die nach Gabe von Avil als Antihistaminicum ausbleibt. Es wurde deshalb auch in der vorgelegten Arbeit Heparin mit einem Antihistaminicum kombiniert, um nach den Versuchsergebnissen Schlüsse ziehen zu können, inwieweit auch Histamin am Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung in vivo durch hyaluronidasehemmende Substanzen beteiligt ist. Daß Avil auch die Hyaluronidasehemmung durch die geprüften Antirheumatika blockiert, wurde durch MATHIAS und Mitarbeiter (21) ebenfalls gezeigt. Schließlich wurde auch Adrenalin nach einer vorangegangenen Protaminsulfat-Injektion auf den hyaluronidasehemmenden Effekt geprüft. Auch hieraus ließ sich entnehmen, inwieweit Heparin oder zumindest heparinähnliche Substanzen an dem Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung, die vermutlich über eine Nebennierenmarkkatecholamin-Ausschüttung läuft, beteiligt sind.

EIGENE VERSUCHE

Methodik

Es wurde zur Bestimmung der Hyaluronidaseaktivität eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddelmethode angewandt. Männlichen weißen Ratten wurden vor und zu verschiedenen Zeiten nach Applikation der auf ihren Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität zu untersuchenden Substanzen je ein Farbstoff- und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel von 0,1 ccm Gesamtflüssigkeit intrakutan in die mit Pilca entfernte Bauchhaut gesetzt. Die Injektion der Farbstofflösung muß mit einer dünnen Kanüle (Nr. 20) und wegen der genau abzumessenden Flüssigkeitsmenge mit einer Tuberkulinspritze erfolgen. Um einen Rückfluß durch den Stichkanal zu vermeiden, wird die Kanüle mindestens 1 cm intrakutan vorgeschoben, ehe der Farbstoff

injiziert wird. Als Farbstoff wurde eine 0,6%ige Evansblaulösung verwandt. Zur Herstellung der Farbstoff+Hyaluronidase-Lösung wurde in 1 ccm der 0,3%igen Evansblaulösung 75 IE einer für Laborzwecke eigens standardisierten Hyaluronidase (Kinetin) als Substanz gelöst, so daß bei der intrakutanen Injektion von 0,1 ccm Farbstofflösung 7,5 IE Hyaluronidase zur Wirkung kamen. Es wurde dabei die Ausbreitung der Farbstoff-Flecken jeweils 10 Minuten nach Setzen der Quaddeln bestimmt, indem die Konturen auf einen Zelluloidstreifen übertragen und der Flächeninhalt planimetrisch ausgemessen wurde. Die Ausbreitung des Farbstoffes ist eine Folge des Druckes, den das gesetzte Flüssigkeitsdepot auf seine Umgebung ausübt. Entsprechend dem Effekt der Hyaluronidase, die durch Depolymerisation der Mucopolysaccharide, die die Zwischenzellsubstanz bilden, die Permeabilität erhöht, breitet eine Farbstofflösung sich rascher aus, wenn ihr Hyaluronidase beigegeben ist. Diese Ausbreitung wird wiederum vermindert, wenn eine hyaluronidasehemmende Substanz wirksam wird.

Die Versuche wurden in Evipan-Narkose durchgeführt. Hierzu wurde den Tieren 40 mg Evipan-Natrium/100 g subkutan injiziert. Nach WILHELM (19) üben Barbiturate keinen Einfluß auf die Hyaluronidaseaktivität aus.

Die Dosierung, Applikationsart und die Versuchszeiten sind bei den einzelnen Versuchsreihen angegeben. Dabei erfolgte die intravenöse Applikation der Versuchssubstanzen in die freigelegte Femoralvene.

Versuchsreihe 1

Nachdem die Untersuchungen von MAXEIN (16) gezeigt haben, daß mit 1,5 IE Heparin/100 g Ratte eine deutliche Hyaluronidasehemmung sichtbar wird, wurde in den Versuchen dieser Untersuchungsreihe 1,5 mg Protaminsulfat i. v. verabreicht und im unmittelbaren Anschluß an diese Injektion 1,5 IE Heparin ebenfalls i. v. appliziert. Die Hyaluronidasehemmung wurde 10 und 40 Minuten (Versuchsreihe 1 a) und 30 und 50 Minuten (Versuchsreihe 1 b) nach Heparinapplikation bestimmt. Die Ergebnisse dieser Versuchsreihe (Tabelle 1 - 2, 17 - 18) zeigen, daß nicht nur ein blockierender Effekt des Protaminsulfats auf die Hyaluronidasehemmung durch Heparin vorliegt, sondern daß sogar eine nicht unerhebliche Steigerung der Hyaluronidaseaktivität stattfindet. Dieses Phänomen erscheint zunächst nicht erklärbar. Auf jeden Fall konnte sichtbar gemacht werden, daß die Hyaluronidasehemmung durch Heparin durch Protaminsulfat einwandfrei blockiert wird.

Versuchsreihe 2

MATHIES (11, 13) und Mitarbeiter haben in ihren Arbeiten zeigen können, daß nach 1 γ Adrenalin/100 g Tier eine deutliche Hyaluronidasehemmung sichtbar ist. Es wurde demnach die gleiche Dosis Adrenalin i. v. injiziert, nachdem 10 Minuten vorher 1,5 mg Protaminsulfat i. v. verabreicht worden waren. Die Bestimmung der Hyaluronidasehemmung erfolgte 10 und 15 Minuten (Versuchsreihe 2 a) und 30 und 50 Minuten (Versuchsreihe 2 b) nach Adrenalin-Gabe. 15 Minuten nach Adrenalininjektion war eine geringe Hyaluronidasehemmung noch nachweisbar, die aber nicht annähernd das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin allein erreicht. Es konnte also eine deutliche Hyaluronidasehemmung nicht festgestellt werden, wenn Protaminsulfat vor Adrenalin appliziert wurde. Die Versuchsergebnisse finden sich in Tabelle 3 - 4, 19 - 20.

Versuchsreihe 3

In dieser Versuchsreihe wurden 1,5 IE Heparin 30 Minuten nach der subkutanen Applikation von 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier i. v. verabreicht. Die Hyaluronidasehemmung wurde 10 und 50 Minuten (Versuchsreihe 3 a) und 30 und 40 Minuten (Versuchsreihe 3 b) nach Heparin-gabe ermittelt. In den genannten Untersuchungen von MATHIES und Mitarbeitern (13) wurde gezeigt, daß 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g Tier in der Lage sind, die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin und Natriumsalicylat zu blockieren. Unsere Untersuchungen (Tabelle 5 - 6, 21 - 22) haben ergeben, daß Ergotamintartrat die Hyaluronidasehemmung durch Heparin nur teilweise zu blockieren in der Lage ist, indem noch Werte von 28 % gefunden wurden, die allerdings nur einen Teil des Ausmaßes der Hyaluronidasehemmung durch Heparin allein bedeuten.

Versuchsreihe 4

Wenn 1,5 IE Heparin/100 g Tier 30 Minuten nach der ebenfalls i. v. Gabe von 5 mg Avil appliziert werden, wird ebenfalls die Hyaluronidasehemmung durch Heparin nur teilweise blockiert, wie die Bestimmung 10 und 40 Minuten (Versuchsreihe 4 a) und 30 und 50 Minuten (Versuchsreihe 4 b) nach Heparinapplikation zeigte. Es finden sich noch Hemmwerte von bis zu 29 %. Die Ergebnisse sind in Tabelle 7 - 8, 23 - 24 aufgeführt.

Berechnung der prozentualen Hemmung

Zur Berechnung der prozentualen Hemmung wurde die Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor Gabe eines hyaluronidasehemmenden Stoffes einer 0%igen Hemmung der Hyaluronidaseaktivität gleichgesetzt. Die Flächenausbreitung der reinen Farbstoffquaddel vor Applikation der hyaluronidasehemmenden Substanzen entspricht einer 100%igen Hemmung. Zu dieser Feststellung wurde angenommen, daß die Ausbreitung einer Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel mit vollständig gehemmter Hyaluronidaseaktivität die gleiche Ausbreitungsgeschwindigkeit aufweisen würde. Unter Zugrundelegung dieser beiden Festpunkte wurde aus der Ausbreitung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel zu den verschiedenen Zeiten nach Applikation der zu untersuchenden Substanzen das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung errechnet. Die Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeimengung nach Applikation der untersuchten Substanzen wird bei der prozentualen Berechnung der Hemmung nicht berücksichtigt. Sie dient lediglich der statistischen Nachprüfung, in wie weit auch die reine Farbstoffquaddel durch die hyaluronidasehemmenden oder die Hemmung blockierenden Substanzen eine Veränderung ihrer Ausbreitungsgeschwindigkeit erfährt.

Statistische Auswertung der Versuchsergebnisse

1. Methodik der statistischen Auswertung

Die statistische Auswertung hatte für jede Versuchsreihe bzw. jede Teil-Versuchsreihe zu prüfen, inwieweit zu den betrachteten Zeitpunkten für die Farbstoffquaddel bzw. die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gesicherte Änderungen gegenüber dem Ausgangswert vorliegen. Ändert sich die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel gegenüber ihrem Ausgangswert, so kann dieses nur dann als spezifischer Hyaluronidase-Effekt gedeutet werden, wenn gleichzeitig die reine Farbstoffquaddel unverändert bleibt. Liegt andererseits eine simultane Änderung der reinen Farbstoffquaddel und der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor, so bedeutet dieses nicht, daß keine Änderung der Hyaluronidase-Aktivität vorliegt. Es ist in diesen Fällen durchaus denkbar, daß sich zwei Effekte, nämlich eine Änderung der Hyaluronidaseaktivität und eine allgemeine Permeabilitätsänderung der Epidermis überlagern.

Das Verhalten der reinen Farbstoffquaddeln und dasjenige der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddeln wurde getrennt untersucht. Wir gingen dabei jeweils von linearen statistischen Modellen aus, die für die beiden Quaddel-Typen die gleichen waren. Wir legten die Annahme zugrunde, daß der Erwartungswert der Änderung, die ein Quaddel-Typus von einem Zeitpunkt des Versuches zum anderen erfährt, eine von den Versuchstieren unabhängige Größe ist. Bestimmt man für jeden Zeitpunkt den Mittelwert der Quaddelgrößen, die zu diesem Zeitpunkt an den Versuchstieren bestimmt wurden, so ist die Differenz zwischen zwei zu verschiedenen Zeitpunkten gehörigen Mittelwerten ein statistischer Schätzwert für den Erwartungswert der tat-

sächlichen Änderung der Quaddelgrößen zwischen diesen beiden Zeitpunkten.

Die Prüfung der Frage, ob die Quaddeln im Versuchsablauf eine statistisch gesicherte Änderung erfahren, führten wir auf Grund des linearen statistischen Modells mittels Varianz-Analysen durch (getrennt für die Farbstoff- und die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel). Das Ergebnis dieser Varianz-Analysen findet sich in den Tabellen 9 - 16. Es bedeutet in den Schemata der Varianz-Analysen jeweils n die Zahl der Freiheitsgrade, SAQ das Summen-Abstands-Quadrat und MAQ das Mittlere-Abstands-Quadrat der jeweiligen Varianz-Komponente. Die Bedeutung der in den Spalten $F_{\text{emp.}}$ und p angegebenen Zahlenwerte wird weiter unten erläutert werden.

2. Diskussion der Ergebnisse der Varianz-Analysen

Die in den Varianz-Analysen angegebene Rest-Varianz ist ein Ausdruck für die Übereinstimmung zwischen dem statistischen Modell und dem empirischen Sachverhalt. Bei der Struktur der vorliegenden Versuche ist sie zugleich die beste Schätzung für den Versuchsfehler. Der in den Varianz-Analysen für die einzelnen Varianz-Komponenten angegebene Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ ist dementsprechend der Quotient der jeweiligen Varianz-Komponente mit der Rest-Varianz. In der Spalte p ist angegeben, welche Überschreitungswahrscheinlichkeit diesem Varianz-QUOTIENTEN $F_{\text{emp.}}$ in der zugehörigen F-Verteilung zukommt, sofern diese Überschreitungswahrscheinlichkeit kleiner als 5% ist.

Eine statistisch gesicherte Änderung der Quaddeln während des Versuchsablaufes kann nur dann behauptet werden, wenn der zur Varianz zwischen den Zeiten gehörige Varianz-Quotient $F_{\text{emp.}}$ eine Überschreitungswahrscheinlichkeit von höchstens 5 % besitzt. Danach sind die Ergebnisse der Varianz-Analysen wie folgt zu interpretieren.

Reine Farbstoffquaddel.

Lediglich die Versuchsreihe 3 b zeigt eine schwach gesicherte Änderung der reinen Farbstoffquaddel. Bei allen anderen Versuchsreihen läßt sich eine Änderung der reinen Farbstoffquaddel statistisch nicht nachweisen. Dieses darf jedoch nicht dahingehend gedeutet werden, daß solche Effekte nicht vorhanden sind, vielmehr ist nur anzunehmen, daß diese Effekte so schwach sind, daß sie bei dem vorliegenden Stichprobenumfang statistisch nicht zu sichern waren.

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel.

Bei der Versuchsreihe 1 ist für beide Teilversuchsreihen die Änderung der Hyaluronidasequaddel im Versuchsablauf statistisch gesichert.

Bei der Versuchsreihe 2 liegt nur für die Teilversuchsreihe 2 a eine statistisch gesicherte Änderung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor.

Die Versuchsreihe 3 weist ebenfalls in ihren beiden Teilversuchsreihen eine statistisch gesicherte Änderung der Hyaluronidase-Quaddel auf.

Bei der Versuchsreihe 4 liegt ebenfalls für beide Teilversuchsreihen eine statistisch gesicherte Änderung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel vor.

Die Varianz-Analysen machen nur eine generelle Aussage darüber, ob die betrachteten Quaddel-Typen innerhalb einer Versuchsreihe statistisch gesicherte Änderungen erfahren. Sie gestatten keine Aussagen darüber, zwischen welchen Zeitpunkten statistisch gesicherte Änderungen in der Größe der Quaddeln vorliegen. Um hierüber eine Aussage machen zu können ist es notwendig, an die Varianz-Analysen einen weiteren Test anzuschließen, der zum simultanen Vergleich mehrerer Mittelwertsdifferenzen dient. Ein solcher Test ist der Duncan-Test, dessen Ergebnisse im folgenden Abschnitt besprochen werden.

3. Statistische Untersuchungen zum zeitlichen Versuchsablauf

In den Tabellen 17 - 24 ist für jeden Zeitpunkt und für jeden Quaddel-Typus (F = Farbstoffquaddel; FH = Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel) der Mittelwert $\bar{x}$ aus sämtlichen zu diesem Zeitpunkt bestimmten Quaddelgrößen angegeben. Wie bereits oben bei der Besprechung der statistischen Methodik erwähnt wurde, ist die Differenz zwischen dem zu einem bestimmten Zeitpunkt gehörigen Mittelwert und dem zu den Ausgangswerten gehörigen Mittelwert die beste statistische Schätzung für den Erwartungswert der Änderung, welche die Quaddelgröße zu diesem Zeitpunkt gegenüber ihrem Ausgangswert erfährt. Diese Differenz ist in den Tabellen in der Spalte $\bar{x}_t - \bar{x}_0$ angegeben, wobei ein positiver Wert eine Vergrößerung, ein negativer Wert eine Verkleinerung gegenüber dem Ausgangswert bedeutet. Um zu entscheiden, zu welchen Zeitpunkten statistisch gesicherte Änderungen der Quaddeln gegenüber ihrem Ausgangswert vorliegen, mußte geprüft werden, welche der angegebenen Differenzen statistisch gesichert von 0 verschieden ist. Wie bereits oben erwähnt, wandten wir hierzu den Duncan-Test an. Soweit dieser Test für die Aussage, der betrachtete Quaddel-Typus habe zu einem speziellen Zeitpunkt eine Änderung gegenüber seinem Ausgangswert erfahren, eine Irrtumswahrscheinlichkeit ergab, die kleiner als 5 % ist, wurde dieses in der Spalte p der Tabellen vermerkt. Nur in diesen Fällen kann behauptet werden, daß eine statistisch gesicherte Änderung der Quaddel zu dem betreffenden Zeitpunkt gegenüber ihrem Ausgangswert vorliegt (5 % schwache Sicherung; 1 % ausreichende Sicherung).

Schließlich enthalten die Tabellen 17 - 24 für jeden Zeitpunkt die Varianzen s^2 der Meßwerte, und außerdem für die Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel die in üblicher Weise berechnete prozentuale Hemmung. Die Änderung der Varianz s^2 von einem Zeitpunkt zum anderen kann als ein Maß für die biologische Variabilität

in der Reaktion der Tiere angesehen werden. Da die Varianzen des gleichen Quaddel-Typus innerhalb der gleichen Teilversuchsreihe überall sehr homogen sind, darf geschlossen werden, daß die Tiere sehr gleichartig reagieren.

4. Interpretation der statistischen Ergebnisse

Bei kombinierter Gabe von Heparin und Protaminsulfat wird eine erhebliche Vergrößerung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel bewirkt. Dieses Ergebnis steht jedoch im Gegensatz zu den Resultaten von MAXEIN (16), bei denen nach kombinierter Gabe von Heparin und Protaminsulfat keine Vergrößerung der Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel auftritt, eher eine Verkleinerung d. h. Hemmung.

Bei den Versuchsreihen mit einer simultanen Gabe von Adrenalin und Protaminsulfat ist bemerkenswert, daß 15' p. i. eine gesicherte Hyaluronidasehemmung vorliegt. Nach den Versuchen von MATHIES (11, 20) und SCHMIDT (14) zeigt sich bei alleiniger Gabe von Adrenalin zu diesem Zeitpunkt eine hoch gesicherte und starke Hyaluronidasehemmung, die somit bei den vorliegenden Versuchen durch die Gabe von Protaminsulfat nicht blockiert werden konnte.

T A B E L L E N

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	10'n.	40'n.	vor	10'n.	40'n.
	1,5 IE Heparin/100 g nach 1,5 mg Protaminsulfat/Tier					
190 g	113 mm ²	138 mm ²	120 mm ²	170 mm ²	195 mm ²	205 mm ²
165 g	110 mm ²	142 mm ²	126 mm ²	178 mm ²	190 mm ²	210 mm ²
150 g	123 mm ²	120 mm ²	120 mm ²	196 mm ²	206 mm ²	222 mm ²
150 g	131 mm ²	133 mm ²	130 mm ²	201 mm ²	222 mm ²	254 mm ²

TABELLE 1
(Versuchsreihe 1 a)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	30'n.	50'n.	vor	30'n.	50'n.
	1,5 IE Heparin/100 g nach 1,5 mg Protaminsulfat/Tier					
165 g	113 mm ²	140 mm ²	136 mm ²	168 mm ²	210 mm ²	200 mm ²
165 g	129 mm ²	140 mm ²	130 mm ²	170 mm ²	210 mm ²	188 mm ²
170 g	135 mm ²	146 mm ²	128 mm ²	183 mm ²	218 mm ²	208 mm ²
150 g	135 mm ²	120 mm ²	146 mm ²	177 mm ²	212 mm ²	187 mm ²

TABELLE 2
(Versuchsreihe 1 b)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff-Hyase-Quaddel		
	vor	10' n.	15' n.	vor	10' n.	15' n.
	1 γ Adrenalin/100 g, 10' nach 1,5 mg Protaminsulfat/Tier					
160 g	130 mm ²	140 mm ²	122 mm ²	230 mm ²	240 mm ²	228 mm ²
170 g	140 mm ²	136 mm ²	131 mm ²	233 mm ²	235 mm ²	210 mm ²
160 g	144 mm ²	134 mm ²	145 mm ²	215 mm ²	221 mm ²	200 mm ²
190 g	134 mm ²	132 mm ²	138 mm ²	244 mm ²	245 mm ²	233 mm ²

TABELLE 3
(Versuchsreihe 2 a)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff-Hyase-Quaddel		
	vor	30' n.	50' n.	vor	30' n.	50' n.
	1 γ Adrenalin/100 g, 10' nach 1,5 mg Protaminsulfat/Tier					
150 g	116 mm ²	122 mm ²	133 mm ²	205 mm ²	193 mm ²	217 mm ²
180 g	124 mm ²	137 mm ²	140 mm ²	228 mm ²	241 mm ²	232 mm ²
155 g	112 mm ²	126 mm ²	133 mm ²	198 mm ²	214 mm ²	214 mm ²
160 g	118 mm ²	130 mm ²	128 mm ²	230 mm ²	222 mm ²	225 mm ²
165 g	138 mm ²	123 mm ²	117 mm ²	202 mm ²	208 mm ²	202 mm ²

TABELLE 4
(Versuchsreihe 2 b)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	10' n.	50' n.	vor	10' n.	50' n.
	1,5 IE Heparin/100 g 30' nach 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g					
170 g	148 mm ²	135 mm ²	140 mm ²	261 mm ²	240 mm ²	240 mm ²
185 g	140 mm ²	114 mm ²	141 mm ²	254 mm ²	214 mm ²	209 mm ²
155 g	138 mm ²	108 mm ²	125 mm ²	230 mm ²	218 mm ²	211 mm ²
160 g	110 mm ²	130 mm ²	121 mm ²	222 mm ²	212 mm ²	195 mm ²

TABELLE 5
(Versuchsreihe 3 a)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	30' n.	40' n.	vor	30' n.	40' n.
	1,5 IE Heparin/100 g 30' nach 0,8 mg Ergotamintartrat/100 g					
150 g	130 mm ²	136 mm ²	116 mm ²	252 mm ²	225 mm ²	205 mm ²
170 g	140 mm ²	105 mm ²	120 mm ²	228 mm ²	212 mm ²	200 mm ²
165 g	130 mm ²	137 mm ²	114 mm ²	214 mm ²	195 mm ²	210 mm ²
150 g	140 mm ²	132 mm ²	120 mm ²	210 mm ²	198 mm ²	180 mm ²
190 g	140 mm ²	120 mm ²	110 mm ²	210 mm ²	204 mm ²	192 mm ²

TABELLE 6
(Versuchsreihe 3 b)*

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	10'n.	40'n.	vor	10'n.	40'n.
		1,5 IE Heparin/100 g 30' nach 5 mg Avil/100 g				
200 g	120 mm ²	112 mm ²	132 mm ²	210 mm ²	190 mm ²	190 mm ²
190 g	140 mm ²	122 mm ²	137 mm ²	240 mm ²	215 mm ²	216 mm ²
160 g	122 mm ²	113 mm ²	118 mm ²	188 mm ²	170 mm ²	162 mm ²
175 g	145 mm ²	144 mm ²	144 mm ²	240 mm ²	217 mm ²	212 mm ²

TABELLE 7
(Versuchsreihe 4 a)

Tier- Gewicht	Farbstoffquaddel			Farbstoff+Hyase-Quaddel		
	vor	30'n.	50'n.	vor	30'n.	50'n.
		1,5 IE Heparin/100 g 30' nach 5 mg Avil/100 g				
165 g	124 mm ²	120 mm ²	120 mm ²	227 mm ²	191 mm ²	213 mm ²
160 g	115 mm ²	130 mm ²	132 mm ²	232 mm ²	195 mm ²	219 mm ²
170 g	144 mm ²	132 mm ²	114 mm ²	216 mm ²	195 mm ²	187 mm ²
170 g	118 mm ²	106 mm ²	123 mm ²	196 mm ²	178 mm ²	189 mm ²

TABELLE 8
(Versuchsreihe 4 b)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren		147	58	-	
Zwischen Tieren		405	202	2,69	-
Rest-Varianz	6	450	75		
Gesamt-Varianz	11	1.029	93		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.429	809	17,98	1,0 %
Zwischen Zeiten	2	2.669	1.334	29,64	0,1 %
Rest-Varianz	6	273	45		
Gesamt-Varianz	11	5.371	488		

TABELLE 9
(Versuchsreihe 1 a)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	68	23	-	
Zwischen Zeiten	2	164	82	-	
Rest-Varianz	6	840	140		
Gesamt-Varianz	11	1.072	97		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	325	108	4,00	-
Zwischen Zeiten	2	2.901	1.450	53,70	0,1 %
Rest-Varianz	6	164	27		
Gesamt-Varianz	11	3.390	308		

TABELLE 10
(Versuchsreihe 1 b)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	163	54	1,17	-
Zwischen Zeiten	2	18	9	-	
Rest-Varianz	6	278	46		
Gesamt-Varianz	11	459	42		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.095	365	15,87	1,0 %
Zwischen Zeiten	2	873	436	18,95	1,0 %
Rest-Varianz	6	138	23		
Gesamt-Varianz	11	2.106	191		

TABELLE 11
(Versuchsreihe 2 a)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	207	52	-	
Zwischen Zeiten	2	195	97	1,21	-
Rest-Varianz	8	644	80		
Gesamt-Varianz	14	1.046	75		

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	2.168	542	8,21	1,0 %
Zwischen Zeiten	2	73	36	-	
Rest-Varianz	8	530	66		
Gesamt-Varianz	14	2.771	198		

TABELLE 12
(Versuchsreihe 2 b)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	764	254	1,76	-
Zwischen Zeiten	2	340	170	1,18	-
Rest-Varianz	6	868	144		
Gesamt-Varianz	11	1.972	179		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	2.241	747	8,03	5,0 %
Zwischen Zeiten	2	1.689	844	13,40	1,0 %
Rest-Varianz	6	379	63		
Gesamt-Varianz	11	4.309	392		

TABELLE 13
(Versuchsreihe 3 a)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	151	38	-	
Zwischen Zeiten	2	1.000	500	5,15	5,0 %
Rest-Varianz	8	775	97		
Gesamt-Varianz	14	1.926	138		

Farbstoff+Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	4	1.740	435	5,12	5,0 %
Zwischen Zeiten	2	1.649	825	9,70	1,0 %
Rest-Varianz	8	683	85		
Gesamt-Varianz	14	4.072	291		

TABELLE 14
(Versuchsreihe 3 b)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.315	438	14,13	1,0 %
Zwischen Zeiten	2	242	121	3,90	-
Rest-Varianz	6	188	31		
Gesamt-Varianz	11	1.745	159		

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	5.225	1.741	100,00	0,1 %
Zwischen Zeiten	2	1.429	714	100,00	0,1 %
Rest-Varianz	6	40	7		
Gesamt-Varianz	11	6.694	608		

TABELLE 15
(Versuchsreihe 4 a)

Farbstoffquaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	399	133	-	
Zwischen Zeiten	2	66	33	-	
Rest-Varianz	6	820	137		
Gesamt-Varianz	11	1.285	117		

Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel

Art der Varianz	n	SAQ	MAQ	F _{emp.}	p
Zwischen Tieren	3	1.363	454	6,88	5,0 %
Zwischen Zeiten	2	1.576	788	11,94	1,0 %
Rest-Varianz	6	400	66		
Gesamt-Varianz	11	3.339	303		

TABELLE 16
(Versuchsreihe 4 b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	119	92			
FH_v	4	186	215			
$F_{10'}$	4	133	92	+ 14		
$FH_{10'}$	4	203	201	+ 17	- 27,9 %	1,0 %
$F_{40'}$	4	124	24	+ 5		
$FH_{40'}$	4	223	485	+ 37	- 60,1 %	1,0 %

TABELLE 17
(Versuchsreihe 1 a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	128	108			
FH_v	4	174	47			
$F_{30'}$	4	136	129	+ 8		
$FH_{30'}$	4	212	14	+ 38	- 91,6 %	1,0 %
$F_{50'}$	4	135	65	+ 7		
$FH_{50'}$	4	196	101	+ 22	- 51,2 %	,0 %

TABELLE 18
(Versuchsreihe 1 b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	137	39			
FH_v	4	230	143			
F_{10^*}	4	135	12	- 2		
FH_{10^*}	4	235	107	+ 5	- 5,0 %	-
F_{15^*}	4	134	96	- 3		
FH_{15^*}	4	215	161	- 15	16,0 %	1,0 %

TABELLE 19
(Versuchsreihe 2 a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	5	122	103			
FH_v	5	212	231			
F_{30^*}	5	128	37	+ 6		
FH_{30^*}	5	216	314	+ 4	- 3,5 %	-
F_{50^*}	5	130	73	+ 8		
F_{50^*}	5	218	129	+ 6	- 6,3 %	-

TABELLE 20
(Versuchsreihe 2 b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	134	275			
FH_v	4	242	349			
F_{10^*}	4	122	164	- 12		
FH_{10^*}	4	221	166	- 21	18,4 %	1,0 %
F_{50^*}	4	132	105	- 2		
FH_{50^*}	4	214	357	- 28	24,8 %	1,0 %

TABELLE 21
(Versuchsreihe 3 a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	5	136	30			
FH_v	5	223	321			
F_{30^*}	5	126	183	- 10		
FH_{30^*}	5	207	146	- 16	16,5 %	5,0 %
F_{40^*}	5	116	18	- 20		1,0 %
FH_{40^*}	5	197	139	- 26	26,2 %	1,0 %

TABELLE 22
(Versuchsreihe 3 b)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	132	159			
FH_v	4	219	641			
$F_{10'}$	4	123	221	- 9		
$FH_{10'}$	4	198	499	- 21	23,7 %	1,0 %
$F_{40'}$	4	133	123	+ 1		
$FH_{40'}$	4	195	614	- 24	27,1 %	1,0 %

TABELLE 23
(Versuchsreihe 4 a)

	N	$\bar{x}$	s^2	$\bar{x}_t - \bar{x}_o$	Hemmung	p
F_v	4	125	170			
FH_v	4	218	255			
$F_{30'}$	4	119	180	- 6		
$FH_{30'}$	4	190	65	- 28	16,5 %	5,0 %
$F_{50'}$	4	122	169	- 3		
$FH_{50'}$	4	202	268	- 16	29,3 %	1,0 %

TABELLE 24
(Versuchsreihe 4 b)

D I S K U S S I O N

Die Untersuchungen der vorgelegten Arbeit haben erkennen lassen, daß die von MAXEIN (16) und ZIWARI (17) nachgewiesene Hyaluronidasehemmung durch Heparin nach vorheriger Protaminsulfatapplikation blockiert wird bzw. sogar negative Werte annimmt. Damit ist die Möglichkeit gegeben, in weiteren Versuchen nähere Aufklärung darüber zu erhalten, inwieweit das Heparin im Funktionsablauf der Hyaluronidasehemmung durch die geprüften antirheumatischen Substanzen beteiligt ist. MATHIES und Mitarbeiter (21) haben bereits zeigen können, daß die Hyaluronidasehemmung durch Natriumsalicylat, Prednisolon, Moorbäder und Oestroneulfat durch Protaminsulfat blockiert werden kann. Da MAXEIN (16) nachweisen konnte, daß die Hyaluronidasehemmung durch Heparin auch bei adrenalectomierten Tieren sichtbar ist, ist nach den eingangs erwähnten weiteren Arbeiten die Möglichkeit gegeben, daß Heparin eine Rolle beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung im Anschluß an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark spielt. Eine weitere Stütze für diese Annahme bilden die Ergebnisse unserer zweiten Versuchsreihe, in der gezeigt wurde, daß eine wesentliche Hyaluronidasehemmung auch durch Adrenalin nicht auftritt, wenn vorher Protaminsulfat appliziert wird. Nachdem durch MATHIES und Mitarbeiter (13) gezeigt werden konnte, daß Ergotamintartrat als Adrenolyticum sowohl die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin als auch durch Natriumsalicylat, Prednisolon, Moorbäder und Oestroneulfat aufhebt, war es interessant, auch den Einfluß von Ergotamintartrat auf die Hyaluronidasehemmung von Heparin zu untersuchen. Unsere Untersuchungen haben ergeben, daß auffallenderweise die Hyaluronidasehemmung durch Heparin nicht nach Ergotamintartratgabe vollständig blockiert wird, jedoch eine deutliche Abschwächung zeigt. Ebenfalls ist auch durch ein Antihistaminicum (Avil) die Hyaluronidasehemmung durch Heparin nur teilweise blockierbar. Wir sehen also, daß in den Versuchen mit wechselseitiger Kreuzung von Heparin bzw. Histamin mit Protaminsulfat bzw. mit einem Antihistaminicum das Ausmaß der Hyaluronidasehemmung nur reduziert, aber nicht aufgehoben wird. Diese Tatsache spricht bereits für eine Wechselwirkung dieser beiden Stoffe im Wirkungsablauf der Hyaluronidasehemmung. Es erscheint nach diesen Versuchsergebnissen schwierig, evtl. das Histamin auch in ein Schema über den Wirkungsablauf der Hyaluronidasehemmung einzubauen. Es ist möglich, daß es sich teilweise um einen unspezifischen Blockierungseffekt handelt, zumal z. B. von BIRCHER und SCHALCH (22) ein antihistaminergischer Effekt von Ergotamin in bestimmten Wirkungsqualitäten nachgewiesen wurde, wobei natürlich offen bleiben muß, ob dieser Effekt wirklich ein direkter ist. Daß Adrenalin zu einer Histaminausschüttung führt, ist nach STAUB (23 - 25) bekannt. Weiter wissen wir von RILEY und WEST (26, 27) daß die Mastzellen Histamin enthalten, das dort nach

WERLE und AMANN (28, 29) und SANYAL und WEST (30) an die SO_3H -Gruppe des in den Granula enthaltenen Heparin gebunden ist. Eine Abhängigkeit des Histamin vom Heparin erscheint auch in unserer Fragestellung möglich. Die Versuchsergebnisse würden demnach bedeuten, daß im Experiment sowohl Histamin als auch Heparin die Hyaluronidasehemmung hervorrufen, wobei aber nach Gabe einer hyaluronidasehemmenden Substanz z. B. eines Antirheumatics nicht Heparin ohne Histamin und umgekehrt nicht Histamin ohne Heparin wirksam werden können. Diese Tatsache würde auf Grund unserer Kenntnis ihrer gegenseitigen Bindung in den Mastzellen nicht überraschen.

ZUSAMMENFASSUNG

In der vorgelegten Arbeit wurde gezeigt, daß die Hyaluronidasehemmung des Heparin durch Protaminsulfat aufgehoben wird bzw. sogar negative Werte annimmt. Gleichzeitig wird die Hyaluronidasehemmung des Adrenalins nach vorheriger Protaminsulfatgabe weitgehend aufgehoben. Die Hyaluronidasehemmung des Heparins ist durch Ergotamintartrat als Adrenolyticum und durch Avil als Antihistaminergicum nur teilweise aufzuheben. Unter Berücksichtigung bereits vorliegender Arbeiten über das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung nach Gabe entsprechend wirksamer Substanzen wird diskutiert, inwieweit im Anschluß an eine Katecholaminausschüttung aus dem Nebennierenmark Heparin oder heparinähnliche Substanzen und Histamin beteiligt sind. Es wird der Schluß gezogen, daß im Anschluß an eine Adrenalin- und Noradrenalinfreisetzung aus dem Nebennierenmark Heparin und Histamin freigesetzt werden, wobei es erforderlich ist, daß beide Substanzen gleichzeitig ausgeschüttet werden, und daß nicht die eine Substanz wirksam werden kann, wenn die andere durch ein entsprechend wirksames Mittel blockiert wird. Diese gemeinsame Beteiligung des Histamins und Heparins erscheint plausibel, wenn man die gegenseitige Bindung in den Mastzellen berücksichtigt.

LITERATURVERZEICHNIS

1. Mathies, H. und Jankowski, A.:
Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
2. Mathies, H.: Arzneimittelforsch. 8, 233 (1958)
3. Mathies, H. und v. Werther, G.:
Arzneimittelforsch. im Druck
4. Mathies, H., Biechele, I. und Hartmann, M.:
im Manuskript
5. Mathies, H.: Z. ges. exp. Med. 131, 118 (1959)
6. Mathies, H. u. v. Werther, G.:
Z. angew. Bäder-Klimahk. 5, 503 (1958)
7. Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 685 (1958)
8. Mathies, H.: Z. Rheumaforsch. im Druck
9. Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 225, 14 (1955)
10. Jung, M.: Diss. München in Vorbereitung
11. Mathies, H.: Arch. int. Pharmacodyn. im Druck
12. Scheufele, R.: Diss. München 1958
13. Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. und Schmidt, D.:
Med. exp. im Druck
14. Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
15. Schlierf, G.: Diss. München 1959
16. Maxein, H.: Diss. München 1959
17. Ziware, A.: Diss. München in Vorbereitung
18. Kontis, N.: Diss. München in Vorbereitung
19. Wilhelmi, G.: zit. Domenjoz (9)
20. Mathies, H.: Verh. dtsch. Ges. inn. Med. 64, 617 (1958)
21. Mathies, H. und Mitarbeiter:
in Vorbereitung

22. Bircher, R. und Schalch, W. R. :
Helv. Physiol. Acta 6, 813 (1948)
23. Staub, H. :
Exper. 2, 29 (1946)
24. Staub, H. :
Helv. Physiol. Acta 4, 539 (1946)
25. Staub, H. :
Schweiz. med. Wschr. 76, 818 (1946)
26. Riley, J. F. und West, G. B. :
Fed. Proc. 11, 350 (1952)
27. Riley, J. F. und West, G. B. :
J. Physiol. 120, 520 (1953)
28. Werle, E. und Amann, R. :
Naturwissenschaften 42, 583 (1955)
29. Werle, E. und Amann, R. :
Klin. Wschr. 34, 624 (1956)
30. Sanyal, R. K. und West, G. B. :
Nature (London) 1956, 1293

Ich danke Herrn Professor Dr. W. SEITZ für die
Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. MATHIES
für die Unterstützung bei der Durchführung der
Versuche und der Abfassung der Arbeit.

Herrn Dipl.-Math. K. LIEBRICH bin ich für die
Durchführung der statistischen Berechnungen dank-
bar.

L E B E N S L A U F

Am 5. April 1932 wurde ich als Sohn des Bäckers Gregorios Christoforis und seiner Ehefrau Marianthe, geb. Sinakou, in Epanomi geboren. Nach einem Besuch von sechs Klassen der Volksschule in Epanomi trat ich im Herbst des Jahres 1947 in das zweite Knabengymnasium in Thessaloniki ein, an welchem ich auch die Reifeprüfung im Juni 1953 ablegte. Mit dem Wintersemester 1954/55 begann ich in München mein Medizinstudium, bestand im April 1957 dort das Physikum und beschloß das Studium mit der ärztlichen Prüfung am 3.8.1960 ebenfalls in München.

